

**АМАРАНТ УРУҒИ ВА МОЙИНИНГ МИКРОБИОЛОГИК ТОЗАЛИГИНИ
АНИҚЛАШ****¹Г.А. Аҳмадова, ²И.К. Азизов, ³Ё.А. Аҳмадова, ⁴Х.К.Олимов**^{1,2,3,4}Тошкент фармацевтика институти, Тошкент шаҳри, Ўзбекистон Республикаси

e-mail: bmg919218@gmail.com, тел. (90) 731-92-44

<https://doi.org/10.5281/zenodo.8370266>

Аннотация. Дори воситаларини ишлаб чиқаришдан то истеъмолчигача бўлган барча босқичларда сифациз дори воситаларини ишлаб чиқариш хавфи еҳтимolini баҳолаш ва уларнинг сифатини таъминлаш учун назорат тизимини такомиллаштириш зарур. Препаратнинг хавфсизлиги тўғридан-тўғри микробиологик параметрларга боғлиқ. Мақолада Ўзбекистон Республикаси Давлат фармакопеясининг 2.6.12 қисми бўйича амарант уруғи ва мойининг микробиологик тозалигини ўрганиш натижалари келтирилган.

Калит сўзлар: дори воситалари, сифат назорати, хавфсизлик, микробиологик тозалик, ўсимлик препаратлари, амарант мойи, амарант уруғи.

Аннотация. Необходимо совершенствовать систему контроля с целью оценки риска производства некачественных лекарств и обеспечения их качества на всех этапах от производства лекарств до потребителя. Безопасность препарата напрямую зависит от микробиологических показателей. В статье представлены результаты изучения микробиологической чистоты семян и масла амаранта по части 2.6.12 Государственной фармакопеи Республики Узбекистан.

Ключевые слова: лекарственные препараты, контроль качества, безопасность, микробиологическая чистота, растительные препараты, амарантовое масло, семена амаранта.

Abstract. It is necessary to improve the control system in order to assess the risk of producing low-quality drugs and ensure their quality at all stages from drug production to the consumer. The safety of the drug directly depends on microbiological parameters. The article presents the results of a study of the microbiological purity of amaranth seeds and oil in accordance with part 2.6.12 of the State Pharmacopoeia of the Republic of Uzbekistan.

Keywords: medicinal products, quality control, safety, microbiological purity, herbal preparations, amaranth oil, amaranth seeds.

Долзарблиги. Доривор ўсимликларни ишлаб чиқариш учун асос турли микроорганизмлар билан ўнг кўп ифлосланган хом ашёлардан бири бўлган ва турли бактериялар, замбуруғлар ва вируслар, шунингдек, ҳайвонлар ва ҳашаротлардан ифлослантирувчи моддалар ташувчиси бўлиши мумкин бўлган доривор ўсимликлардир. Бундай ҳолда, нафақат доривор ўсимлик хом ашёси, балки деярли барча моддалар ва тайёр дозалаш шакллари ҳам микробиал ифлосланишга дучор бўлиши мумкин.

Фармацевтика ишлаб чиқаришни ривожлантиришнинг ҳозирги босқичида яхши ишлаб чиқариш амалиёти (ГМП) қоидаларига риоя қилиш мажбурий бўлиб, бу моддалар ва доривор маҳсулотлар сифатини назорат қилишда қатъий ёндашувларга олиб келади. Фармацевтика саноатида дори воситаларининг сифатини таъминлаш тизими мавжуд бўлиб, ҳар қандай модда ва дозалаш шакллари сифатини тавсифловчи муҳим кўрсаткичлардан бири унинг микробиологик тозалигидир [1, 57-59]. Шунинг учун дори-

дармонларни ва айниқса ўсимлик препаратларини ишлаб чиқишда зарурий шарт микробиологик хавфларни баҳолашдир. Шу билан бирга, препаратнинг хавфсизлиги ва унинг ифлосланишининг микробиологик кўрсаткичлари ўртасидаги тўғридан-тўғри боғлиқликни ҳисобга олган ҳолда, имкон қадар аниқ ва ишончли бўлиши керак бўлган микробиологик тестларнинг сифатини қатъий назорат қилиш керак.

Тадқиқот мақсади: Маҳаллий амарант уруғи ва мойининг микробиологик тозалигини баҳолаш.

Материаллар ва методлар. Тадқиқот объекти очик ҳавода қуритилган, тозаланган маҳаллий думли амарант уруғи ва ундан совуқ пресслаш усулида ажратиб олинган мойи.

Микробиологик тадқиқотлар учун ишлатиладиган озуқа муҳити [4].

Муҳит №1 - аэроб бактерияларни етиштириш учун, курук, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Муҳит №2 (глюкоза ва антибиотиклар билан Сабоурауд агар) - хамиртуруш ва моғор кўзикоринларини етиштириш учун, курук, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Муҳит №3 - Энтеробактериялар учун, курук, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Муҳит №4 - энтеробактерияларни изоляция қилиш учун курук, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Муҳит №8- ўсаётган бактериялар учун, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Муҳит №10 - олтин стафилококкни изоляция қилиш учун, курук, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Муҳит №11 - энтеробактерияларни олдиндан бойитиш учун, курук, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Муҳит №12 - салмонеллаларни изоляция қилиш учун, курук, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Муҳит №13 - салмонеллаларни аниқлаш учун, курук, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Муҳит №14 - E. соли ни аниқлаш учун, курук, «HIMEDIA», Ҳиндистон.

Маҳаллий амарант уруғи ва мойининг микробиологик тозалигини ўрганиш Ўзбекистон Республикаси Давлат фармакопоеясининг 2.6.12 қисми тавсифланган доривор маҳсулотлар ва моддаларнинг микробиологик тозалигига қўйиладиган талабларга мувофиқ амалга оширилди.

Дори воситаларининг табиий келиб чиқиши бўйича микробиологик тозалikka қўйиладиган талаблар қуйидагилар:

- аэроб бактерияларнинг умумий сони 10000 дан ошмаган 1 г ёки 1 мл;
- замбуруғларнинг умумий сони 200 дан ошмаган 1 г ёки 1 мл;
- escherichia coli 1 г ёки 1 мл да мавжуд эмаслиги;
- salmonella 10 г ёки 10 мл да мавжуд эмаслиги;
- pseudomonas aeruginosa 1 г ёки 1 мл да мавжуд эмаслиги;
- staphylococcus aureus 1 г ёки 1 мл да мавжуд эмаслиги;
- энтеробактерия ва бошқа баъзи граммманфий бактериялар 200 дан ошмаган 1 г ёки 1 мл.

Тажриба қисми. Микробиологик тозалик синови синовдан олдин турли хил намуналарни тайёрлаш, таҳлил қилиш учун намуналар олиш, яшовчан бактериялар ва замбуруғлар миқдорини аниқлаш усуллари, стерил бўлмаган доривор маҳсулотларда қабул қилиниши мумкин бўлмаган ёки чекланган ўзига хос бактериал турларни аниқлаш

ва аниқлашни ўз ичига олади. Синов намуналарининг ифлосланишини олдини олиш учун синов асептик шароитда ўтказилди.

Микроорганизмларни миқдорий аниқлаш. Синов Петри идишларида икки қатламли усул ёрдамида амалга оширилди. 10 г намунаси рН 7,0 бўлган фосфат тампон эритмасида эритилди, шунда эритманинг якуний ҳажми 100 мл ни ташкил этди.

Аероб бактериялар сонини аниқлаш. Тайёрланган еритмадан 4 мл дан 45⁰С ҳароратгача совутилган 1-сонли муҳит солинган иккита пробирканинг ҳар бирига 1 мл дан қўшилди.

Пробирка ичидагилар тезда аралаштирилади ва 20 мл қотиб қолган озуқа муҳити № 1 бўлган Петри идишига ўтказилади. Муҳитнинг юқори қатлами идишни айлантириб, бир текис тақсимланади. Муҳит қотиб қолгандан сўнг, идишлар айлантирилди ва 35⁰С ҳароратда 5 кун давомида инкубация қилинди. 48 соатдан кейин ва ниҳоят 5 кундан кейин иккита идишдаги колониялар сони ҳисоблаб чиқилди, ўртача қиймат топилди, уни суюлтириш индексига қўпайтирилди ва 1 г намунадаги бактериялар сонини ҳисоблаб чиқди.

Замбуруғларнинг умумий сонини аниқлаш. Синов юқорида тавсифланган икки қатламли агар усулида 2-сонли муҳитдан фойдаланган ҳолда ўтказилди. Экинлар 5 кун давомида 22⁰С ҳароратда инкубация қилинди. 72 соатдан сўнг ва ниҳоят 5 кундан сўнг, икки стакандаги хамиртуруш ва моғор қўзиқоринларининг умумий колониялари ҳисоблаб чиқилди, ўртача қиймат топилди ва у суюлтириш индексига қўпайтирилди, яъни. 10 га, ва 1 г намунадаги қўзиқоринлар сони ҳисобланган.

Enterobacteriaceae оиласини ажратиш ва аниқлаш. 10 г миқдоридagi намуна 100 мл №11 муҳитга қўшилди, аралаштирилади ва 2 соат давомида инкубация қилинади. Инкубациядан сўнг, пишанинг таркиби (гомогенат А) аралаштирилади ва 10 мл 100 мл муҳитга ўтказилади. № 3. Экиш 18-48 соат давомида инкубация қилинди. Ўсиш пайдо бўлгач, улар №4 қаттиқ муҳитга субкултура қилинди ва 18-24 соат давомида инкубация қилинди. Муҳитда грамм-манфий таёқчалар колонияларининг пайдо бўлиши далил эди. синов намунаси бактериялар билан ифлосланган.

Миқдорини аниқлаш: 3 та пробиркадан 9 мл 3-сонли муҳит солинган пробиркадан фойдаланилди. Биринчи пробиркага 1 мл миқдорида (0,1 г намунага тўғри келади) гомогенат А қўшилди, яхшилаб аралаштирилди ва 1 мл дан (тўғри келади) ўтказилди. 0,01 г намуна) иккинчи пробиркага солинг, яна аралаштирилади ва ҳар бир қадамдан кейин пипеткани алмаштириб, учинчи пробиркага 1 мл (0,001 г намунага тўғри келади) ўтказилади. Емлашлар 24-48 соат давомида инкубация қилинди. Ўсган тақдирда энтеробактериялар борлигини тасдиқлаш учун 4-сонли қаттиқ муҳитга илмоқ билан сепилади ва Петри идишлари 18-24 соат давомида инкубация қилинади. Қаттиқ муҳитда грамм-манфий таёқчалар колонияларининг пайдо бўлиши ижобий синовни кўрсатди; колония ўсишининг йўқлиги салбий тестни кўрсатди. 1 г намунадаги энтеробактериялар ва бошқа грам-манфий микроорганизмларнинг энг еҳтимолий сони 1-жадвалга мувофиқ аниқланди.

1-жадвал

Намунадаги энтеробактериялар ва бошқа граммусбат бактериялар сонини аниқлаш

Синов намунасининг тегишли миқдори				1 г намунадаги бактерияларнинг эҳтимоллар сони
0,1 г	0,01 г	0,001 г		
1 мл гомогенат 1	1:10	нисбатда	1:100	
			нисбатда	

	суюлтирилган 1 мл гомогената 1	суюлтирилган 1 мл гомогената 1	
+	+	+	10 ³ дан кўп
+	+	-	10 ² -10 ³
+	-	-	10 ² -10 ³
-	-	-	10 ¹ дан кам

Белгилар: (+) - ижобий тест; (-) - салбий тест.

Escherichia соли ни аниқлаш. Стерил тампон еритмаси билан 1:10 нисбатда суюлтирилган синов намунаси 10 мл микдорида (1 г га тўғри келади) 100 мл суюқ озиклантирувчи №8 муҳитга ўтказилди, аралаштирилади ва 18-48 соат давомида инкубация қилинади. Кейин пишанинг 1 мл таркиби 10 мл № 3 муҳитга ўтказилди. Емлашлар 18-24 соат давомида инкубация қилинди. Ўсиш борлигида, пробиркалардаги муҳит бир хилда лойқа бўлган тақдирда, улар 4-сонли муҳитга субкултурация қилинди. Емлашлар 18-24 соат давомида инкубация қилинди. №4 муҳитда *E. соли* қип-қизил ранг ҳосил қилди. металл ялтироқ колониялар, қип-қизил зоналар билан ўралган, шиллик бўлмаган. Қаттиқ муҳитда *E. соли* га тегишли эканлигига шубҳа қилинган колониялар микроскопик тарзда текширилди. Смеарларда аниқланганда

Грам-манфий таёқчалар, алоҳида колониялар 1-сонли муҳитда пробиркаларда қийшайтирилган ва 18-24 соат давомида инкубация қилинган.

Натижаларни тасдиқлаш учун биокимёвий тестлар қўлланилади. Соф културали пробиркалар Симмонс агар ва соя казеин булонига (ўрта №15) субкултурация қилинди ва ситохром оксидаза ферменти мавжудлиги учун синов ўтказилди. 18-24 соат инкубациядан сўнг Симмонс агарда (ўрта № 14) бактериал ўсиш ёки унинг етишмаслиги қайд етилди. Ситратдан фойдаланиш рН муҳитининг ишқорий томонга силжиши (атроф-муҳит рангининг яшилдан кўк рангга ўзгариши) билан аниқланди. Ковасс реактиви қўшилганда соя-казеин булёнининг юзасида қизил ҳалқа пайдо бўлиши билан индол мавжудлиги аниқланди.

Агар намунада ситохром оксидаза ферментига эга бўлмаган, натрий ситратини ишлатмайдиган ва индол ҳосил қилувчи граммусбат спора ҳосил қилмайдиган таёқчалар топилган бўлса, препарат *E. соли* билан ифлосланган деб ҳисобланади.

***E. соли* ни микдорий аниқлаш.** *E. соли* микдорини аниқлаш бошқа энтеробактерияларни микдорий аниқлаш билан бир хил тарзда амалга оширилди, гомогенат А дан 3-сонли муҳитга эга бўлган найчаларга субкултура. Найчалардаги муҳитнинг бир хил лойқалиги бўлса, мавжудлигини тасдиқлаш учун. *E. соли*, ҳар бир колбадан 4-сонли қаттиқ муҳитга ҳалқа билан субкултура. Экинлар 18-24 соат давомида инкубация қилинди. ОАВда *E. соли* га хос грамм-манфий таёқчалар колонияларининг пайдо бўлиши ижобий синов, бу колонияларнинг ўсишининг йўқлиги салбий синов бўлди. 1 г намунадаги *E. соли* хужайраларининг энг еҳтимолий сони 1-жадвалга мувофиқ аниқланди.

Салмонелла жинси бактерияларини аниқлаш. Бошида 10,0 г синов намунаси 100 мл №8 муҳитга солинади, аралаштирилади ва 18-24 соат давомида инкубация қилинади. Агар ўсиш бўлса, аралаштиргандан кейин 1 мл дан 10 мл №12 муҳитга ва 16-24 соат давомида инкубация қилинади. Кейин улар висмут-сулфитли агарга илмоқ билан емланади ва 24-48 соат давомида инкубация қилинади. Висмут-сулфитли агарда

Салмонеллалар жинсига мансуб бактериялар ўзига хос металл ялтираб турадиган қора колониялар ҳосил қилади ва муҳитнинг майдони. колония қора рангга айланди.

Салмонеллалар жинсига мансубликда гумон қилинган колониялар микроскопик тарзда текширилди. Смеарларда грамм-манфий таёқчалар аниқланганда, 2-3 та характерли колониялар (ҳар бири алоҳида) темир тузлари (муҳит № 13) қўшилган уч қандли агарга субкултура қилинган, биринчи навбатда еғимли колонияларга кўп миқдорда култура суртилган. агарнинг бир қисми, сўнгра уни колона ичига юбориш орқали, колба тубига тегмасдан . 24 соатлик инкубациядан сўнг, озуқавий муҳит устунида рангнинг қизилдан сариқ рангга ўзгариши қайд етилди. Муҳитнинг қорайиши водород сулфидининг ҳосил бўлишини кўрсатди, бу Салмонелла жинси турларининг типик аломатидир. Параллел равишда, №1 муҳитнинг агар қиялигидан олинган соф култура ёрдамида "ситохром оксидаза" ферменти мавжудлиги учун синов ўтказилди. Агар қўшимча тасдиқлаш зарур бўлса, тегишли биокимёвий ва серологик тестлар қўлланилган.

Агар намунада "ситохром оксидаза" ферментига эга бўлмаган, сахароза ва лактоза ферменти бўлмаган ва водород сулфиди ҳосил қилмайдиган грамм-манфий спора ҳосил қилмайдиган таёқчалар бўлса, препарат Салмонелла жинси бактериялари билан ифлосланган деб ҳисобланади.

Staphylococcus aureus ни аниқлаш. Стерил тампон еритмаси билан 1:10 нисбатда суюлтирилган синов намунаси 10 мл миқдорда (1 г га тўғри келади) 100 мл суюқ озиклантирувчи № 8 муҳитга ўтказилди, аралаштирилади ва 24-48 соат давомида инкубация қилинади. Агар ўсиш бўлса, улар 10-сонли муҳитга ҳалқа билан ўтказилди ва 24-48 соат давомида инкубация қилинди. 10-сонли муҳитда сариқ зоналар билан ўралган олтин сариқ рангли колониялар *S. aureus* мавжудлигини кўрсатди.

Идентификация қилиш учун биз 1-сонли муҳитда скрининг қилинган стафилококкнинг соф маданияти билан плазма коагуляция реакциясидан фойдаландик.

Агар намунада маннитол ферменти (муҳит №10) ва коагулаза ферментига эга бўлган грамм-мусбат кокклар топилган бўлса, у ҳолда препарат **Staphylococcus aureus** билан ифлосланган.

Маҳаллий амарант уруғи ва мойининг микробиологик тозалигини ўрганиш натижалари 3-4-жадвалда келтирилган.

Натижалар.

Амарант уруғининг намуналари «микробиологик тозалик» кўрсаткичи Давлат Фармакопеяси «Дори воситаларининг микробиологик назорати усуллари» мақоласи талабларига жавоб беради. Олинган натижалар -жадвалда келтирилди.

3-жадвал

Амарант уруғи микробиологик тозалигини белгиловчи кўрсаткичлари

Кўрсаткичлар	Меъёрий ҳужжат талаблари	Таҳлил натижалари	МХ талабларига мослиги
Аэроб бактериялар умумий сони (1г намунада)	10 ⁵ дан ошмаслиги керак	4000	Мос келади

Ачитқи ва моғор замбуруғларининг умумий сони (1 г намунада)	10 ⁴ дан керак	ошмаслиги	50	Мос келади
Staphylococcus aureus (1 г ёки 1 мл)	мавжуд керак	бўлмаслиги	мавжуд эмас	Мос келади
Escherichia coli (1 г ёки 1 мл)	мавжуд керак	бўлмаслиги	мавжуд эмас	Мос келади
Salmonella (10 г ёки 10 мл)	мавжуд керак	бўлмаслиги	мавжуд эмас	Мос келади
Pseudomonas aeruginosa (1 г ёки 1 мл)	мавжуд керак	бўлмаслиги	мавжуд эмас	Мос келади
Энтеробактерия ва бошқа грамманфий бактериялар (1 г ёки 1 мл)	2x10 ² керак	ошмаслиги	10 дан кам	Мос келади

Шунингдек, амарант мойининг микробиологик тозалиги ЎзРДФ «Дори воситаларининг микробиологик тозалигини аниқлаш» мақоласи ва 12.10.2005й. даги №2 ўзгартириш 3.2 категория бўйича амалга оширилди. Натижалар 4-жадвалда келтирилган. Олинган натижалардан кўриш мумкинки, амарант мойи микробиологик тозалиги талабларига тўлиқ жавоб беради.

4-жадвал

Амарант мойининг микробиологик тозалиги

Кўрсаткичлар	Меъёрий хужжат талаблари	Таҳлил натижалари	МҲ талабларига мослиги	
Аэроб бактериялар умумий сони (1 г намунада)	10 ⁴ дан керак	ошмаслиги	10 ³ КОЕ	Мос келади
Ачитқи ва моғор замбуруғларининг умумий сони (1 г намунада)	2·10 ² дан керак	ошмаслиги	20 КОЕ	Мос келади
Staphylococcus aureus (1 г ёки 1 мл намунада)	мавжуд керак	бўлмаслиги	мавжуд эмас	Мос келади
Escherichia coli (1 г ёки 1 мл намунада)	мавжуд керак	бўлмаслиги	мавжуд эмас	Мос келади
Salmonella (10 г ёки 10 мл намунада)	мавжуд керак	бўлмаслиги	мавжуд эмас	Мос келади
Pseudomonas aeruginosa (1 г ёки 1 мл намунада)	мавжуд керак	бўлмаслиги	мавжуд эмас	Мос келади

Энтеробактерия ва бошқа грамманфий бактериялар (1 г ёки 1 мл намунада)	10 ² дан ошмаслиги керак	10 дан кам	Мос келади
--	--	------------	------------

Хулоса. Шундай қилиб, Маҳаллий амарант уруғи ва мойининг микробиологик тозалик кўрсаткичлари Ўзбекистон Республикаси Давлат фармакопеяси талабларига жавоб беради ва оғиз орқали юбориш ёки сиртга қўллаш учун дори воситаларининг стерил бўлмаган шакллари ишлаб чиқариш учун ишлатилиши мумкин.

REFERENCES

1. Арзамасцев А. П., Титова А. В. Особенности системы стандартизации субстанций в условиях рыночной экономики // Ремедиум. Москва, 2006. № 9. С. 57-59.
2. Ўзбекистон Республикаси давлат фармакопеяси, 2021
3. Государственная Фармакопея XII изд., Т. 2. М.: НЦЭСМП, 2008. С. 163